

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 862 907 A2

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:  
09.09.1998 Patentblatt 1998/37

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: A61K 7/06, A61K 7/48,  
A23J 3/14

(21) Anmeldenummer: 98100938.4

(22) Anmeldetag: 21.01.1998

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC  
NL PT SE  
Benannte Erstreckungsstaaten:  
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 07.03.1997 DE 19709360

(71) Anmelder:  
Dragoco Gerberding & Co Aktiengesellschaft  
D-37603 Holzminden (DE)

(72) Erfinder:

- Manzo, Robert  
Goshen, NY 10924 (US)
- Pickenhagen, Wilhelm, Dr.  
37671 Höxter (DE)
- Vollhardt, Jürgen, Dr.  
37639 Bevern (DE)

(74) Vertreter:

Eikenberg, Kurt-Rudolf, Dr. Dipl.-Chem.  
Patentanwalt  
Schackstrasse 1  
30175 Hannover (DE)

### (54) Proteinextrakt aus Getreidekleber

(57) Beschrieben wird ein Proteinextrakt in Form einer aus getrocknetem Getreidekleber gewonnenen alkoholischen Extraktionslösung, die mit Glycerin und/oder einem kurzkettigen Alkandiol versetzt und im Vakuum bis auf einen Alkoholgehalt von weniger als 5 Gew.%, vorzugsweise weniger als 1 Gew.% eingeeengt ist.

Dieser Extrakt eignet sich hervorragend zur Verwendung in kosmetischen Präparaten zur Pflege von geschädigtem Haar.

EP 0 862 907 A2

## Beschreibung

Während des Lebenszyklus eines Humanhaares werden durch mechanische Beanspruchung, z.B. beim Kämmen oder Toupieren, oder auch durch chemische Behandlung wie z.B. Bleiche, Färbung oder Dauerwelle mehr oder weniger starke Schäden an der Struktur des Haares verursacht. Diese Schäden verschlechtern die Oberflächeneigenschaften des Haares, z.B. bezüglich Glanz, Geschmeidigkeit oder Kämmbarkeit und erniedrigen allgemein die Festigkeit. Geschädigte Haare können leichter brechen als ungeschädigte.

Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß Proteinhydrolysate, die sich durch Abbau nativer Proteine herstellen lassen, haarpflegende Eigenschaften besitzen. Diese Hydrolysate enthalten hauptsächlich Peptide mit einem Molekulargewicht im Bereich von 2 - 3 kDa und lassen sich aus verschiedenen Proteinquellen gewinnen, beispielsweise aus Getreideklebern dadurch, daß der Kleber entfettet und dann unter alkalischen Bedingungen extrahiert wird. Als Beispiel beschreibt die eigene WO-A 90/05521 ein Hydrolysat, das in einem mehrstufigen Verfahren aus Getreidekleber, vorzugsweise Weizenkleber gewonnen wird und u.a. in Haarpflegemitteln einsetzbar ist. Gemäß dieser Schrift wird der getrocknete Kleber zunächst mit einem Fettlösemittel entfettet und danach mit wässrigem Ethanol, der durch  $\text{NH}_3$  alkalisch eingestellt ist, extrahiert. Der Extraktionsrückstand wird verworfen, und die flüssige Phase wird ggf. unter Vollvakuum abgekühlt, wobei ein Proteinprodukt ausfällt, das nach Abtrennung eine bei Raumtemperatur honigartige klare Hydrolysat-Masse bildet. Diese Masse kann für die gewünschten Zwecke konditioniert und weiterverarbeitet werden.

Derartige Hydrolysate werden verhältnismäßig gleichmäßig vom Haar aufgenommen und lassen sich dann nicht nur in der äußeren Schuppenzellschicht (Cuticula) des Haares, sondern auch im Bereich des Faserstammes (Cortex) finden. Ein solches Verhalten ist zur mehr vorbeugenden Pflege von noch weitgehend ungeschädigtem Haar sehr erwünscht. Für bereits stärker geschädigtes Haar ist hingegen ein Pflegereagenz anzustreben, das in der Lage ist, den Ort der Schädigung zu erkennen, sich spezifisch dort anzulagern und den Auswirkungen der Schädigung entgegen zu wirken. Es ist das Ziel der Erfindung, ein solches Pflegereagenz zur Verfügung zu stellen.

Dieses Ziel wird erfindungsgemäß erreicht mit einem Proteinextrakt in Form einer aus getrocknetem Getreidekleber gewonnenen alkoholischen Extraktionslösung, die mit Glycerin und/oder einem kurzkettigen Alkandiol versetzt und im Vakuum bis auf einen Alkoholgehalt von weniger als 5 Gew.%, vorzugsweise weniger als 1 Gew.% eingeeengt ist.

Besonders vorteilhaft ist ein Proteinextrakt, der dadurch hergestellt ist, daß der getrocknete Getreidekleber, vorzugsweise Weizenkleber, mit verdünntem kurzkettigen Alkanol, vorzugsweise Ethanol extrahiert wird, die flüssige Phase nach Abtrennung des festen Rückstands mit Glycerin oder ggf. einem kurzkettigen Alkandiol, wie beispielsweise Ethandiol oder Propandiol versetzt und solange im Vakuum eingeeengt wird, bis sich der Alkanolgehalt der flüssigen Phase auf weniger als 5 Gew.%, vorzugsweise weniger als 1 Gew.% vermindert hat. Vorzugsweise wird dabei die Extraktion mit 50 - 90 %igem, bevorzugt 60 - 70 %igem Ethanol als Extraktionsmittel im Verhältnis Kleber zu Extraktionsmittel von 1 : 15 bis 1 : 2, bevorzugt 1 : 5 und bei Temperaturen von 15 - 45 °C, bevorzugt bei 20 °C durchgeführt. Die Extraktionszeit kann dabei 0,25 - 48 h betragen und liegt, abhängig von den verwendeten Geräten, normalerweise im Bereich von 15 h. Der Proteingehalt des eingeeengten Extrakts liegt bei 1 - 30 % Protein, vorzugsweise bei 10 Gew.% Protein.

Die Erfindung bzw. ihre bevorzugten Ausgestaltungen unterscheiden sich von der WO-A 90/05521 sowohl verfahrensmäßig als auch im Produkt. So wird ein nicht entfetteter Kleber der Extraktion unterworfen, wodurch sich ein höherer Gehalt an Lipiden, Glycolipiden und Phospholipiden im Extrakt ergibt. Desweiteren wird die Extraktion nicht im alkalischen Bereich, sondern im Neutralbereich durchgeführt, so daß kaum Hydrolyse stattfindet und ganz anders zusammengesetzte Proteinfractionen anfallen. Außerdem erfolgt auch keine Ausfällung der Proteine aus dem Extrakt, wodurch vermieden wird, daß gut lösliche Komponenten im Überstand der Fällung angereichert und mit dem Überstand verworfen werden. Schließlich ist das Produkt gemäß der WO-A 90/05521 eine honigartige Nasse, die schlecht handhabbar ist, ggf. mit Ethanol/Wasser verdünnt werden muß und dann zur Bildung von Niederschlägen neigt, wodurch die weitere Verwendbarkeit nachhaltig eingeschränkt wird. Das Produkt gemäß der Erfindung ist dagegen eine klare Lösung von ganz ausgezeichneter Lagerstabilität, die problemlos in kosmetische Präparate eingebracht werden kann. Es enthält auch keinen oder zumindest weniger als 5 % Ethanol, das in höheren Konzentrationen u.U. den Flammpunkt und die Viskosität kosmetischer Präparate unerwünscht erniedrigen kann.

Als entscheidend dürfte anzusehen sein, daß der Proteinextrakt gemäß der Erfindung kein Proteinhydrolysat darstellt, sondern im wesentlichen die nativen Getreideproteine (Prolamine) enthält (im Falle des Weizens also das Gliadin), die im Unterschied zu den Hydrolysaten kaum wasserlöslich sind und in der Hauptfraktion ein Molekulargewicht von 28 - 39 kDa aufweisen. Überraschend wurde nun festgestellt, daß dieses Produkt - anders als die Hydrolysate - das Haar nicht mit einem gleichmäßigen Film belegt und auch nicht in tiefere Haarbereiche hineindiffundiert, sondern sich primär an geschädigte Stellen des Humanhaares anbindet, und zwar besonders stark an gespaltenen Haarenden oder an durch Kämmen oder Toupieren geschädigten Haarabschnitten. Damit ist durch die Erfindung ein spezifisch für geschädigtes Haar geeignetes Pflegereagenz zur Verfügung gestellt.

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Erfindung

**Beispiel 1 Herstellung des Proteinextrakts**

Kommerziell erhältlicher, getrockneter Weizenkleber wird mit 50 - 90 %igem, vorzugsweise 60 - 70 %igem Ethanol im Verhältnis Weizenkleber zu Lösungsmittel von 1 : 15 bis 1 : 2, vorzugsweise 1 : 5 bei 15 - 45 °C, vorzugsweise bei 20 °C extrahiert.

Nach einer Rührzeit von 0,25 - 48 h, vorzugsweise 15 h wird die Suspension mittels eines Dekanters weitgehend von der festen Phase befreit. Das so gewonnene Dekantat wird durch Filtration mit einem Plattenfilter klar filtriert. Dann wird Glycerin zugesetzt und im Vakuum eingedunstet. Wasser und Ethanol werden solange abdestilliert bis weniger als ca. 1 % Ethanol im Sumpfprodukt enthalten sind. Das so enthaltene Produkt kann 1 - 30 Gew.% Protein enthalten und enthält normalerweise etwa 10 Gew.% Protein (Trockensubstanz).

Anstelle von oder zusammen mit Ethanol können auch Methanol und/oder Isopropanol in geeigneter Verdünnung zur Extraktion eingesetzt werden und das Glycerin kann ganz oder teilweise durch ein Alkandiol wie Ethandiol und/oder Propandiol ersetzt werden.

**Beispiel 2 Nachweis spezifischer Adsorption an Humanhaar****2.1. Herstellung des fluoreszenzmarkierten Proteins**

Das nach Beispiel 1 aus Weizenkleber extrahierte Protein wurde, um es "sichtbar" zu machen, mit Fluorescein Isotiocyanat (FITC 1 on Celite, Firma Aldrich) bei Raumtemperatur umgesetzt.

Zu 1,5 g Protein wurden 37,5 mg FITC 1 gegeben und der pH-Wert der Ethanol/Wasser-Lösung mit Triethylamin p.A. auf 8,5 eingestellt. Der Reaktionsansatz wurde 2 h bei RT vor Licht geschützt gerührt. Der Rückstand (Celite) wurde durch Zentrifugieren (bei 3000 rpm, 10 min) abgetrennt, der Überstand mit einer Sephadex LH-20 Säule von niedermolekularen FITC und vorhandenen Salzen gereinigt. Die fluoreszierenden Fraktionen wurden gesammelt und am Rotationsverdampfer eingedunstet. Ausbeute: 115 mg

**2.2. Haarbehandlungen zur Erzeugung definierter Haarschädigung****2.2.1. Kämmen**

Jeweils 2 cm breite Haartressen wurden mit einem gepreßten Kamm insgesamt 2000mal (von jeder Seite 1000mal) in Richtung von der Wurzel zur Spitze gekämmt.

**2.2.2. Toupieren**

Eine 2 cm breite Haartresse wurde insgesamt 50mal mit einem gepreßten Kamm in Richtung von der Spitze zur Wurzel toupiert.

**2.2.3. Bleichen**

Jeweils 100 mg Humanhaare, die zu einer Strähne zusammengebunden waren, wurden in einer Lösung aus 9,6 ml H<sub>2</sub>O, 2,4 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %ig), 0,57 mg Ammoniumcarbonat bei pH 9,1 eine Stunde unter schwachem Rühren bei 30 °C in einem Thermostaten behandelt. Es wurde sorgfältig mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet.

**2.3. Behandlung der Haare aus ethanolischer Lösung und Erzeugung der Waschflotte zur Untersuchung gemäß 2.5.**

Für die Behandlungen wurden 10 ca. 5 cm lange Haare zu einer Strähne zusammengebunden. Die Behandlungen erfolgten in einer Lösung aus Ethanol/Wasser (70/30, v/v) mit 0,5 % (m/v) Proteingehalt (fluoreszenzmarkiert nach 2.1.) 30 min unter Schütteln bei RT. Zum Spülen der Haare werden 25 ml verwendet.

**2.4. Behandlung aus wässriger Natriumlaurethsulfat-Lösung und Erzeugung der Waschflotte zur Untersuchung gemäß 2.5.**

Für die Behandlungen wurden 10 ca. 5 cm lange Haare zu einer Strähne zusammengebunden. Die Behandlungen erfolgten in einer Lösung aus 5 %iger (m/v) SLS-Lösung mit 0,5 % (m/v) Proteingehalt (fluoreszenzmarkiert nach 2.1.) 30 min unter Schütteln bei RT. Zum Spülen der Haare werden 25 ml verwendet.

